

tính ứng dụng thực tiễn trong việc hỗ trợ nhà hoạch định chính sách trong việc phân bổ chi phí y tế, sử dụng hiệu quả nguồn ngân sách dành cho y tế.

Các nghiên cứu tiếp theo có thể dựa trên kết quả từ nghiên cứu này để so sánh, và bổ sung cập nhật dữ liệu các mô hình dự báo chi phí, khai thác nhiều thông tin hơn về đặc điểm liên quan đến người bệnh, và quan tâm đến những loại chi phí khác như chi phí trực tiếp ngoài y tế, chi phí gián tiếp, để có thể đánh giá đầy đủ về chi phí điều trị bệnh Thalassemia tại Việt Nam.

## V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân tích và dự báo chi phí trực tiếp y tế trong điều trị nội trú cho người bệnh Thalassemia ≤16 tuổi theo quan điểm của cơ quan BHYT, tạo cơ sở quan trọng cho cơ quan quản lý y tế đánh giá một cách chính xác về chi phí điều trị bệnh Thalassemia, từ đó, ước tính được nguồn ngân sách mà BHYT cần chi trả cho người bệnh, hướng đến phân bổ hợp lý nguồn ngân sách trong chăm sóc y tế tại Việt Nam.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ Y Tế (2014).** Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh Hemophilia và bệnh Thalassemia. Quyết định 921/QĐ-BYT ngày 18/3/2014.

2. **Goh L. P. W., Chong E. T. J., Lee P.-C. (2020).** Prevalence of Alpha( $\alpha$ )-Thalassemia in Southeast Asia (2010–2020): A Meta-Analysis Involving 83,674 Subjects. 17 (20), pp. 7354.
3. **Sattari M., Sheykhi D., Nikanfar A., Pourfeizi A. H., Nazari M., et al. (2012).** The financial and social impact of thalassemia and its treatment in Iran. 18 (3), pp. 171-176.
4. **Delea T. E., Hagiwara M., Thomas S. K., Baladi J. F., Phatak P. D., et al. (2008).** Outcomes, utilization, and costs among thalassemia and sickle cell disease patients receiving deferoxamine therapy in the United States. Am J Hematol. 83 (4), pp. 263-70.
5. **Angelucci E., Antmen A., Losi S., Burrows N., Bartiromo C., et al. (2017).** Direct medical care costs associated with  $\beta$ -thalassemia care in Italy. 130, pp. 3368.
6. **Teawtrakul N., Chansung K., Sirijerachai C., Wanitpongpan C., Thepsuthammarat K. (2012).** The impact and disease burden of thalassemia in Thailand: a population-based study in 2010. J Med Assoc Thai. 95 Suppl 7, pp. S211-6.
7. **Esmailzadeh F., Azarkeivan A., Emamgholipour S., Akbari Sari A., Yaseri M., et al. (2016).** Economic Burden of Thalassemia Major in Iran, 2015. J Res Health Sci. 16 (3), pp. 111-115.
8. **Alshamsi S., Hamidi S., Narcis H. O. (2022).** Healthcare resource utilization and direct costs of transfusion-dependent thalassemia patients in Dubai, United Arab Emirates: a retrospective cost-of-illness study. BMC Health Serv Res. 22 (1), pp. 304.

## ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ GIẢI TRÌNH TỰ GEN THỂ HỆ MỚI TRONG CHẨN ĐOÁN NGUYÊN NHÂN RỐI LOẠN PHỔ TỰ KỶ Ở TRẺ EM

Trần Văn Anh\*, Lê Thị Quyên\*,  
Đậu Trung Hiếu\*, Nguyễn Thị Trang\*

### TÓM TẮT

**Mục tiêu nghiên cứu:** Khảo sát tỷ lệ mang đa hình gen MTHFR C677T và MTHFR A1298C ở trẻ mắc rối loạn phổ tự kỷ tại Việt Nam và đánh giá vai trò của công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới trong chẩn đoán nguyên nhân rối loạn phổ tự kỷ ở trẻ em. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 50 trẻ được chẩn đoán mắc rối loạn phổ tự kỷ theo tiêu chuẩn DSM – IV tại Bộ môn Y sinh học – Di truyền từ tháng 9/2019-tháng 9/2020. **Kết quả:** Tỷ lệ mang kiểu gen MTHFR 677 CC/CT/TT ở trẻ mắc rối loạn phổ tự kỷ là 70%/26%/4%. Tỷ lệ mang kiểu gen MTHFR 1298 AA/AC/CC là 28%/60%/12%. Có 15 biến thể khác nhau liên quan

đến rối loạn phổ tự kỷ được phát hiện bằng công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới. **Kết luận:** Tỷ lệ phân bố kiểu gen MTHFR 677 CC/CT/TT ở trẻ mắc rối loạn phổ tự kỷ là 70%/26%/4%. Tỷ lệ phân bố kiểu gen MTHFR 1298 AA/AC/CC là 28%/60%/12%. Công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới là một kỹ thuật có giá trị trong chẩn đoán các nguyên nhân di truyền gây rối loạn phổ tự kỷ, đặc biệt là các biến thể hiếm gặp.

**Từ khóa:** Rối loạn phổ tự kỷ, NGS.

### SUMMARY

#### APPLICATION OF NEXT-GENERATION SEQUENCING (NGS) IN DIAGNOSING THE CAUSES OF AUTISM SPECTRUM DISORDER IN CHILDREN

**Objectives:** Investigating the rate of patients with MTHFR C677T and MTHFR A1298C polymorphisms in children with autism spectrum disorder and evaluating the role of Next-generation sequencing NGS in diagnosing causes of autism spectrum disorder. **Subjects and method:** A cross-sectional descriptive study was conducted on 50 children diagnosed with

\*Trường Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Trang

Email: trangnguyen@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 1.3.2022

Ngày phản biện khoa học: 20.4.2022

Ngày duyệt bài: 28.4.2022

autism spectrum disorder according to DSM – IV at the Department of Medical Biology and Genetics from September 2019 to September 2020. **Results:** The rates of genotype MTHFR 677 CC/CT/TT in children with autism spectrum disorder were 70%/26%/4%, respectively. The rates of genotype MTHFR 1298 AA/AC/CC in children with autism spectrum disorder were 28%/60%/12%, respectively. There were 15 different variants in the genes associated with autism spectrum disorder detected by NGS. **Conclusion:** The rates of genotype MTHFR 677 CC/CT/TT in children with autism spectrum disorder were 70%/26%/4%, respectively. The rates of genotype MTHFR 1298 AA/AC/CC in children with autism spectrum disorder were 28%/60%/12%, respectively. NGS is a useful technique for diagnosing genetic causes of autism spectrum disorder, especially rare variants.

**Keywords:** Autism spectrum disorder, NGS.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rối loạn phổ tự kỷ (ASD) đề cập đến một nhóm các rối loạn phát triển tâm thần bao gồm tự kỷ, hội chứng Asperger (AS) và Rối loạn phát triển lan tỏa ở trẻ em (PDD-NOS), đặc trưng bởi sự khởi phát sớm rối loạn chức năng giao tiếp và tương tác xã hội, hành vi lặp đi lặp lại và giảm chú ý.<sup>1</sup> Tại Việt Nam, theo nghiên cứu của khoa phục hồi chức năng bệnh viện Nhi trung ương xu thế mắc rối loạn phổ tự kỷ tăng nhanh từ 122% đến 268% trong giai đoạn năm 2004 đến năm 2007 so với năm 2000 và số trẻ tự kỷ đến khám vào năm 2007 thì tăng tới 50 lần.<sup>2</sup>

Tự kỷ là bệnh di truyền đa nhân tố trong đó yếu tố di truyền đóng vai trò chính trong việc xác định căn nguyên bệnh, ước tính khoảng 90% các trường hợp mắc rối loạn phổ tự kỷ có liên quan đến các căn nguyên di truyền. Đến nay, rất nhiều gen liên quan tới ASD đã được nghiên cứu như MTHFR, RFC, TCN2, COMT, GSTM1, .... MTHFR C677T và MTHFR A1298C là hai trong số các biến thể di truyền của gen MTHFR được quan tâm nghiên cứu nhất hiện nay, cả hai đa hình này đều cho thấy ảnh hưởng gây giảm hoạt độ enzym MHTFR trong huyết tương và có mối liên quan mật thiết với nguy cơ mắc và mức độ nặng rối loạn phổ tự kỷ.<sup>3</sup>

Với vai trò quan trọng của yếu tố di truyền trong cơ chế bệnh sinh gây rối loạn phổ tự kỷ, việc chẩn đoán xác định nguyên nhân di truyền ở bệnh nhân mắc rối loạn phổ tự kỷ là hết sức cần thiết nhằm phát hiện sớm rối loạn phổ tự kỷ ở trẻ trong giai đoạn vàng của sự phát triển, từ đó có những kế hoạch điều trị phù hợp và giúp ích cho công tác tư vấn di truyền. Tuy nhiên, trên thực tế hiện nay ước tính khoảng 50% bệnh nhân rối loạn phổ tự kỷ chưa được xác định nguyên nhân di truyền. Giải trình tự thế hệ mới

(NGS) là một kỹ thuật hiện đại, cho phép xác định các biến thể trên khắp các vùng mã hóa protein (WES) và của vùng không mã hóa (WGS) của bộ gen, qua đó có thể phát hiện các biến thể đã biết, các biến thể mới có liên quan đến rối loạn phổ tự kỷ cũng như các bệnh đồng mắc do đó cho phép các bác sĩ lâm sàng đưa ra chẩn đoán phân tử một cách hiệu quả về mặt thời gian cũng như chi phí.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**1. Đối tượng nghiên cứu.** Đối tượng nghiên cứu gồm gồm 50 trẻ được bác sỹ chuyên khoa chẩn đoán xác định mắc rối loạn phổ tự kỷ theo tiêu chuẩn DSM – IV: trẻ có ít nhất 6 dấu hiệu, trong đó: 2 dấu hiệu biểu hiện khiếm khuyết về chất lượng quan hệ xã hội; 1 dấu hiệu biểu hiện khiếm khuyết về chất lượng giao tiếp; 1 dấu hiệu có hành vi bất thường.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

**Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

**Địa điểm nghiên cứu:** Bộ môn Y sinh học – Di truyền, Đại học Y Hà Nội.

**Thời gian tiến hành nghiên cứu:** Từ tháng 9/2019 đến tháng 12/2020.

**Phương pháp xử lý số liệu:** Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0

**Kỹ thuật xét nghiệm:** 50 trẻ được chẩn đoán mắc rối loạn phổ tự kỷ được xét nghiệm xác định các đột biến gen MTHFR C677T, MTHFR A1298G bằng kỹ thuật Real-time PCR, những trường hợp mang đột biến sẽ được kiểm tra lại bằng kỹ thuật giải trình tự Sanger. Trong số những trường hợp không phát hiện đột biến gen MTHFR C677T, MTHFR A1298G bằng kỹ thuật Realtime PCR, chúng tôi chọn ngẫu nhiên 5 trường hợp để tiến hành khảo sát 3123 biến thể liên quan đến rối loạn phổ tự kỷ bằng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới NGS.

**3. Đạo đức nghiên cứu.** Các thông tin, số liệu nghiên cứu hoàn toàn chính xác, trung thực, mọi thông tin cá nhân của bệnh nhân đều được giữ bí mật và chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu.

## III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Tỷ lệ phân bố đa hình C677T của gen MTHFR ở nhóm đối tượng nghiên cứu

Kiểu gen	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
CC	35	70
CT	13	26
TT	2	4
CT+TT	15	30
<b>Tổng số</b>	<b>50</b>	<b>100</b>

Trong số 50 trẻ mắc rối loạn phổ tự kỷ, có 35 trẻ (70%) có kiểu gen bình thường, 15 trẻ mang đa hình gen MTHFR C677T trong đó có 13 trẻ (26%) mang kiểu gen dị hợp tử đột biến CT và 2 trẻ (4%) mang kiểu gen đồng hợp tử đột biến TT.

**Bảng 2. Tỷ lệ phân bố đa hình A1298C của gen MTHFR ở nhóm đối tượng nghiên cứu**

Kiểu gen	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
AA	14	28

AC	30	60
CC	6	12
AC+CC	36	72
<b>Tổng số</b>	<b>50</b>	<b>100</b>

Trong số 50 trẻ mang rối loạn phổ tự kỷ, có 14 trẻ (28%) có kiểu gen bình thường, 36 trẻ mang đa hình gen MTHFR A1298G, trong đó có 30 trẻ (60%) mang kiểu gen dị hợp AG và 6 trẻ (12%) mang kiểu gen đồng hợp GG.

**Bảng 3. Kết quả giải trình tự gen thế hệ mới**

Bệnh nhân	Gen	Biến thể	Bệnh lý liên quan
1	WNT2	AA NC_000007.14:g.117279924	ASD
	CNTNAP2	GG NM_014141.6:c.209926267	ASD, rối loạn phát triển ngôn ngữ
		CC NC_000007.14:g.147882527	Rối loạn phát triển ngôn ngữ
		AT NM_014141.6:c.208+18133	ASD, rối loạn phát triển ngôn ngữ
	TT NC_000007.14:g.147829814	Rối loạn phát triển ngôn ngữ	
2	NIPA1	GG NC_000015.10:g.22832212	ASD, tâm thần phân liệt
	STXBP1	CC NC_000009.12:g.127672093	ASD
	MLC1	GG NC_000022.11:g.5007991	ASD
	EN2	AA NC_000007.14:g.155461298	ASD
3	CYFIP1	TC NC_000015.10:g.22896157	ASD, tâm thần phân liệt
	NIPA1	GG NC_000015.10:g.22832212	ASD, tâm thần phân liệt
	MLC1	GG NC_000022.11:g.5007991	ASD
	EN2	AA NC_000007.14:g.155461298	ASD
4	CYFIP1	TC NC_000015.10:g.22896157	ASD, tâm thần phân liệt
	DBH	CC NC_000009.12:g.133635393	ASD
	SNAP25	TT NC_000020.11:g.10306440	Rối loạn tăng động giảm chú ý
	CDH13	AA NC_000022.11:g.34463801	Rối loạn tăng động giảm chú ý
5	SCL6A2	GG NC_000016.10:55698033	ASD
	SHT1B	GG NC_000006.12:77462542	Rối loạn tăng động giảm chú ý
5	Không phát hiện thấy biến thể di truyền liên quan đến rối loạn phổ tự kỷ		

Trong số 7 trẻ mắc rối loạn phổ tự kỷ không phát hiện đa hình gen MTHFR C677T và MTHFR A1298G bằng kỹ thuật realtime PCR, chúng tôi chọn ngẫu nhiên 5 trường hợp tự kỷ để tiến hành giải trình tự gen thế hệ mới, kết quả cho thấy có 1 trường hợp không phát hiện biến thể di truyền và 4 trường hợp phát hiện mang biến thể di truyền liên quan đến rối loạn phổ tự kỷ.

#### IV. BÀN LUẬN

**Phân bố kiểu gen MTHFR C677T và MTHFR A1298G ở nhóm đối tượng nghiên cứu.** Trong nghiên cứu này, khi ứng dụng kỹ thuật Realtime PCR và kỹ thuật giải trình tự Sanger, chúng tôi nhận thấy, trong nhóm trẻ mắc rối loạn phổ tự kỷ, tỷ lệ phân bố kiểu gen MTHFR C677T CC/CT/TT là 70%/26%/4%. Kết quả này là thấp hơn so với nghiên cứu của Elif Funda Sener và cộng sự: tỷ lệ phân bố kiểu gen MTHFR 677 CC/CT/TT ở trẻ mắc rối loạn phổ tự kỷ lần lượt là 44,9%/ 52%/3,1%,<sup>4</sup> nghiên cứu của Farida El-Baz và cộng sự (2017): tỷ lệ phân

bố kiểu gen MTHFR 677 CC/CT/TT ở trẻ mắc rối loạn phổ tự kỷ là 61,3%/48,4%/12,9%.<sup>3</sup>

Đối với đa hình gen MTHFR A1298C, chúng tôi nhận thấy tỷ lệ phân bố kiểu gen AA/AC/CC ở trẻ mắc rối loạn phổ tự kỷ là 28%/60%/12%. Kết quả này là tương đồng với nghiên cứu của tác giả Farida El-Baz và cộng sự (2017), tỷ lệ phân bố kiểu gen AA/AC/CC ở trẻ mắc rối loạn phổ tự kỷ là 22,6%/41,9%/35,5%.<sup>3</sup>

#### **Kết quả giải trình tự gen thế hệ mới.**

Trong số 7 trẻ không mang đa hình gen MTHFR C677T và MTHFR A1298G, chúng tôi chọn ngẫu nhiên 5 trẻ tiến hành giải trình tự gen thế hệ mới NGS. Kết quả cho thấy, trong số 5 trường hợp mắc rối loạn phổ tự kỷ được khảo sát 3123 biến thể di truyền liên quan đến rối loạn phổ tự kỷ bằng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới NGS, có 1 trường hợp không phát hiện biến thể di truyền, 4 trường hợp còn lại phát hiện thấy 15 biến thể di truyền nằm trên các gen NIPA1, STXBP1, MLC1, EN2, CYFIP1, DBH, SNAP25, CDH13, SCL6A2, SHT18, WNT2, CNTNAP1 (Bảng

3). 4 SNP của gen CNTNAP1 được tìm thấy ở bệnh nhân mắc rối loạn phổ tự kỷ gồm rs7794745, rs2710102, rs2538991, rs851715. Trong đó rs7794745 là biến thể được chứng minh có khả năng làm tăng nguy cơ mắc rối loạn phổ tự kỷ lên 1,55 lần. Ba biến thể còn lại được cho là có liên quan đến rối loạn chức năng ngôn ngữ trong rối loạn phổ tự kỷ với triệu chứng điển hình là nói lặp lại những từ ngữ vô nghĩa.<sup>5</sup> Biến thể SNP rs2896218 của gen WNT2 được chứng minh là có liên quan mật thiết đến rối loạn lặp lại hành vi và rối loạn chậm phát triển ngôn ngữ ở bệnh nhân mắc rối loạn phổ tự kỷ.<sup>6</sup> Các biến thể khác như biến thể rs1861972 của gen EN2 được chứng minh gây giảm sự biệt hóa của tế bào thần kinh, ảnh hưởng đến quá trình hình thành và phát triển bình thường của võ não, làm tăng nguy cơ mắc rối loạn phổ tự kỷ,<sup>7</sup> biến thể rs1009153 của gen CYFIP1 có liên quan chặt chẽ với nguy cơ mắc rối loạn phổ tự kỷ và tâm thần phân liệt.<sup>8</sup> Ngoài ra chúng tôi còn phát hiện thấy nhiều biến thể SNP khác có liên quan đến rối loạn phổ tự kỷ và rối loạn tăng động giảm chú ý trên các gen DBH (rs1611115), SNAP25 (rs1051312), gen HTR1B (rs6296), MLC1, STXBP1, CDH13, SCL6A2 (rs998424).

## V. KẾT LUẬN

Tỷ lệ phân bố kiểu gen MTHFR 677 CC/CT/TT ở trẻ mắc rối loạn phổ tự kỷ là 70%/26%/4%.

Tỷ lệ phân bố kiểu gen MTHFR 1298 AA/AC/CC ở trẻ mắc rối loạn phổ tự kỷ là 28%/60%/12%.

Công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới là một kỹ thuật có giá trị trong chẩn đoán các nguyên nhân di truyền gây rối loạn phổ tự kỷ, đặc biệt là

các biến thể hiếm gặp.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sharma SR, Gonda X, Tarazi FI. Autism Spectrum Disorder: Classification, diagnosis and therapy. Pharmacol Ther. 2018;190:91-104. doi:10.1016/j.pharmthera.2018.05.007
2. Nghiên cứu xu thế mắc và một số đặc điểm dịch tễ học của trẻ tự kỷ điều trị tại Bệnh viện Nhi Trung ương giai đoạn 2000 đến 2007. Accessed April 19, 2022. <http://lienthuvien.yte.gov.vn/tai-lieu/y-hoc-thuc-hanh/nghien-cuu-xu-the-mac-va-mot-so-dac-diem-dich-te-hoc-cua-tre-tu-ky-dieu-tri-tai-benh-vien-nhi-trung-uong-giai-doan-2000-den-2007>
3. El-Baz F, El-Aal MA, Kamal TM, Sadek AA, Othman AA. Study of the C677T and 1298AC polymorphic genotypes of MTHFR Gene in autism spectrum disorder. Electron Physician. 2017;9(9):5287-5293. doi:10.19082/5287
4. Sener EF, Oztop DB, Ozkul Y. MTHFR Gene C677T Polymorphism in Autism Spectrum Disorders. Genet Res Int. 2014;2014:698574. doi:10.1155/2014/698574
5. Werling AM, Bobrowski E, Taurines R, et al. CNTNAP2 gene in high functioning autism: no association according to family and meta-analysis approaches. J Neural Transm Vienna Austria. 2016;123(3):353-363. doi:10.1007/s00702-015-1458-5
6. Lin PI, Chien YL, Wu YY, et al. The WNT2 gene polymorphism associated with speech delay inherent to autism. Res Dev Disabil. 2012;33(5):1533-1540. doi:10.1016/j.ridd.2012.03.004
7. Gharani N, Benayed R, Mancuso V, Brzustowicz LM, Millonig JH. Association of the homeobox transcription factor, ENGRAILED 2, 3, with autism spectrum disorder. Mol Psychiatry. 2004;9(5):474-484. doi:10.1038/sj.mp.4001498
8. Wang L, Li J, Shuang M, et al. Association study and mutation sequencing of genes on chromosome 15q11-q13 identified GABRG3 as a susceptibility gene for autism in Chinese Han population. Transl Psychiatry. 2018;8:152. doi:10.1038/s41398-018-0197-4

## ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP, ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA THẢO MỘC-SV

Trần Trọng Dương\*, Lê Văn Quân\*\*

### TÓM TẮT

Tiến hành nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của THẢO MỘC – SV được tiến hành trên chuột trong phòng thí nghiệm cho thấy: Với liều uống

THẢO MỘC – SV từ 346mg/kg đến 2076mg/kg không gây các dấu hiệu nhiễm độc cấp tính hoặc chết trên chuột nhắt trắng. Liều LD50 của THẢO MỘC – SV nếu có là lớn hơn 2076mg/kg; Chuột cống trắng uống THẢO MỘC – SV 28 ngày với 2 liều 214.52mg/kg và 643,56 mg/kg không thấy có ảnh hưởng đến chức năng tạo máu, chức năng gan và chức năng thận với hình thái chức năng gan và thận bình thường. Từ các kết quả nêu trên, chúng tôi kết luận: THẢO MỘC – SV là an toàn, không gây độc tính cấp tính và bán trường diễn trên động vật thực nghiệm.

**Từ khóa:** độc tính cấp; độc tính bán trường diễn; THẢO MỘC – SV.

\*Bệnh viện 19-8, Bộ Công an

\*\*Học viện Quân Y, Bộ Quốc Phòng

Chịu trách nhiệm chính: Trần Trọng Dương

Email: bsduongretechco@gmail.com

Ngày nhận bài: 2.3.2022

Ngày phản biện khoa học: 20.4.2022

Ngày duyệt bài: 28.4.2022